

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВ

В. В. Узбеков, Б. Ф. Абдуллаев, Ю. И. Ощепкова, Ш. И. Салихов

ПОЛУЧЕНИЕ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ФОРМ РАГОСИНА И АЛЛАПИНИНА, ХАРАКТЕРИСТИКИ ИХ НАГРУЖЕННОСТИ И ОКИСЛЕННОСТИ ФОСФОЛИПИДОВ

Институт биоорганической химии им. академика А. С. Садыкова АН РУз,
г. Ташкент, Республика Узбекистан

Методом диспергирования липидного слоя впервые получены лецитиновые липосомы противовирусного препарата «Рагосин» и антиаритмического препарата «Аллапинин». Форма и структура образовавшихся частиц исследованы при помощи оптической микроскопии. Определена нагрузка полученных липосом по лиганду. Установлено, что степень включения рагосина в липосомы невелика (2–3 %) и находится в прямой зависимости от содержания в матриксе холестерина. Содержание инкорпорированного аллапинина в липосомах составляет от 10 до 12 % от их веса и полностью зависит от концентрации исходного раствора. Измерены показатели окисленности фосфолипидов – индекс окисленности и перекисное число. Показано, что предложенный метод получения липосом не оказывает существенного влияния на степень окисленности составляющих их фосфолипидов.

Ключевые слова: аллапинин, рагосин, лекарственные формы, липосомы, фосфолипиды, лецитин, степень окисленности, перекисное число.

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия наблюдается бурное развитие областей фармацевтической и медицинской науки, ориентирующихся на изучение и применение субмикронных и наноразмерных частиц, среди которых особое место занимают липосомы [1–4].

Являясь на момент своего открытия лишь моделью клеточной мембраны [5, 6], они быстро превратились в важнейший объект прикладных исследований и, как следствие, коммерческого применения – на рынке присутствуют десятки липосомальных форм препаратов самого разнообразного фармакологического действия [7].

Липосомы и липосомальные комплексы чаще всего представляют собой фосфолипидные (ФЛ) везикулы [8], которые находят широкое применение в медицине в качестве резервуарного терапевтического средства, осуществляющего адресную доставку лекарственных средств (ЛС) к клеткам-мишеням путем взаимодействия с ними по механизмам слияния («fusion») и эндоцитоза [9, 10]. Липосомы снижают токсичность препаратов, увеличива-

ют их биодоступность, защищают от разрушающего действия ферментов плазмы крови и обеспечивают пролонгированное действие. Вследствие своей полусинтетической природы, возможно получение липосом широкого спектра физических свойств, состава поверхности, природы включаемых веществ [11]. Ввиду того, что мембрана липосом сформирована из тех же ФЛ, что входят в состав биологических мембран – фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина, фосфатидилсерина, липосомы обладают высокой биосовместимостью и легко подвергаются биодegradации [12]. Особенности и преимущества липосом как носителей ЛС подробно и неоднократно описаны в литературе [13–16].

Известно, что молекулы, подлежащие включению в липосомы, по-разному локализуются в различных участках липосомальной матрицы: водорастворимые вещества включаются обычно во внутреннее пространство, при этом важную роль играют электростатические взаимодействия. В случае же гидрофобных (жирорастворимых) веществ, включение их в липосомы происходит за счет встраивания в межбислойное пространство [17].

При формировании липосом водная сердцевина позволяет включать воду и присутствующие в ней растворенные вещества, а липидный бислой – гидрофобные соединения. Таким образом, в липосомы можно инкорпорировать практически любое вещество, независимо от его растворимости, размеров и электрического заряда [18].

Использование липосомальных ЛС в медицине предъявляет высокие требования как к технологиям производства, так и к показателям качества готового продукта. Одним из основополагающих показателей качества липосомальных форм ЛС является степень окисленности ФЛ [19]. Общепринятыми показателями меры окисленности ФЛ являются так называемый “Индекс окисленности” I_o (перекисный индекс Кляйна) и принятое в ГОСТах и другой нормативной документации перекисное число, показывающее относительное содержание активного кислорода в продукте.

Объектами данного исследования являлись липосомальные формы разработанного в Институте биоорганической химии им. академика А. С. Садыкова Академии наук Республики Узбекистан противовирусного препарата *рагосин* [20], представляющего собой азометиновое производное госсипола – основного альдегидного терпеноида семян и корней хлопчатника вида *Gossipium hirsutum*, с антипирином, а также антиаритмического препарата *аллапинин* [21,22] (лаппаконитина (4-(N-ацетилантраноилокси)-8,9-дигидрокси-1 α , 14 α , 16 β -триметокси-N-этил-18-нораконана) гидробромид [23]), четвертичной соли дитерпенового алкалоида, выделенного из аконита северного *Acónitum septentrionale* и любезно предоставленного Институтом химии растительных веществ АН РУз. Основным материалом мембран липосом выступал яичный лецитин (фосфатидилхолин), а стабилизирующим компонентом, повышающим прочность и вязкость мембраны, – холестерин.

Целью данного исследования являлись оценка возможности получения липосомальных форм рагосина, аллапинина, их характеристика по нагрузке и исследование влияния условий выделения ФЛ и получения липосом на показатели окисленности составляющих их ФЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение препарата ФЛ (лецитина). ФЛ выделяли из желтков куриных яиц сочетанием методов экстракции ацетоном и этанолом с последующим фракционированием на окиси алюминия по модифицированной методике [24]. Гомогенность полученного препарата определяли методом ТСХ в системе хлороформ-метанол-вода (65 : 24 : 4 об.) в сравнении с коммерческими препаратами.

Определение концентрации препарата ФЛ. Определение проводили весовым методом: 3–5 мл раствора ФЛ в этаноле или хлороформе, взятого мерной пипеткой, наливали в заранее взвешенные сухие бюксы, помещали в сушильный шкаф, установленный на температуру 110 °С. Оставляли на 2 ч и взвешивали до постоянной массы, следя за тем, чтобы окраска сухого остатка не усиливалась. Вес препарата рассчитывали по разности весов, которые затем усредняли из трех измерений. Концентрацию определяли как отношение полученного веса к объему раствора, помещенного в бюкс.

Определение перекисного числа полученного препарата ФЛ. Перекисное число ФЛ определяли по модифицированной методике, описанной в ГОСТ РФ 53970-2010 [25]. Для этого спиртовой раствор, содержащий около 0,5 г ФЛ, помещали в заранее взвешенную на аналитических весах небольшую круглодонную колбу и упаривали на ротаторном испарителе при температуре 40–45 °С. После отгонки этанола колбу досушивали на лиофильной сушке, помещали в эксикатор с осушителем и взвешивали до постоянной массы, определяя, таким образом, точную навеску ФЛ. К сухому остатку образца ФЛ добавляли 3 мл смеси ледяной уксусной кислоты и хлороформа в объемном соотношении 3 : 2, перемешивали в течение 1 мин до полного растворения образца, затем добавляли 50 мкл насыщенного раствора иодида калия, снова перемешивали и оставляли на 20 мин в темном месте. После этого добавляли 3 мл воды очищенной, 0,2 мл 1 % р-ра крахмала и титровали 0,001 н раствором тиосульфата натрия до исчезновения фиолетовой окраски. 0,001 н раствор тиосульфата натрия получали разведением 0,1 н раствора, концентрацию которого, в свою очередь, определяли по первичному стандарту бихромата калия.

Вычисление перекисного числа производили по формуле (1) [25]:

$$X = 1000 \frac{(V_1 - V_0)C}{m}, \quad (1)$$

где X – перекисное число, ммоль/кг;

V_1 – объем раствора тиосульфата натрия, израсходованный на титрование пробы, см³;

V_0 – объем раствора тиосульфата натрия, израсходованный на титрование в холостом опыте, см³;

C – молярная концентрация раствора тиосульфата натрия, вычисленная с учетом поправки к номинальной молярной концентрации, моль/дм³;

1000 – коэффициент пересчета результата в ммоль/кг;

m – масса анализируемой пробы, г.

Получение больших мультиламеллярных липосом с инкорпорированным рагосином. Липосомы с инкорпорированным рагосином получали методом диспергирования липидного слоя. Для этого лецитин, рагосин и холестерин, взятые в мольном соотношении 1 : 0,3 : 0,3 соответственно, помещали в круглодонную колбу и растворяли в хлороформе. Растворитель медленно упаривали на роторном испарителе так, чтобы растворенные компоненты образовали тонкую пленку. Полученную липидную пленку гидратировали нейтральным фосфатно-солевым буфером Дюльбекко (ФСБД) при постоянном перемешивании на вибромешалке до образования дисперсии многослойных липосом, окрашенной в лимонно-желтый цвет. Аналогичным образом, но без добавления рагосина, получали «холостые» липосомы, не нагруженных рагосином – они представляли собой эмульсию молочно-белого цвета.

Исследование нагрузки липосом по рагосину. Пластиковые пробирки «эппендорф» с эмульсией липосом центрифугировали в течение 10 мин при 6000 об/мин, супернатант сливали, осадок (≈300 мкл) растворяли в 3 мл хлороформа, центрифугировали и определяли оптическую плотность полученного раствора при длинах волн 440 или 465 нм против контроля, представляющего собой растворенные в

хлороформе «холостые» липосомы. Количество инкорпорированного рагосина определяли фотометрически по ранее полученному градуировочному графику. Нагрузку определяли отношением полученного количества рагосина к общему весу взятых компонентов.

Получение липосом с инкорпорированным аллапинином. Липосомы получали методом диспергирования набухшего липидного слоя в водную фазу, содержащую растворенный в ФСБД аллапинина гидробромид. Для этого брали 1 мл 5 % спиртового раствора лецитина (50 мг), объединяли с таким же объемом раствора, содержащим 10–20 мг холестерина в хлороформе, и упаривали на роторном испарителе. Осадок растворяли в 2–3 мл смеси хлороформ-метанол в объемном соотношении 4 : 1, медленно упаривали на роторном испарителе до образования липидной пленки.

Диспергирование липидной пленки проводили заранее приготовленными растворами аллапинина гидробромида (1–10 мг/мл) в нейтральном ФСБД. Аналогичным образом проводили холостой (контрольный) опыт, используя для гидратации липидной пленки ФСБД.

Исследование нагрузки липосом по аллапинину. Эппендорфы с эмульсией липосом центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин, супернатант сливали, осадок растворяли в 3 мл метанола, центрифугированием либо фильтрованием через бумажный фильтр отделяли выпавший холестерин и определяли оптическую плотность при 298 нм против аналогичным образом полученного в холостом опыте раствора. Количество аллапинина определяли по ранее полученной калибровочной прямой, полученной при анализе растворов в интервале концентраций 5–150 мкг/мл.

Определение индекса окисленности (перекисного индекса Кляйна) липосомальных ФЛ. Эмульсию липосом осаждали центрифугированием и растворяли этаноле так, чтобы оптическая плотность при длине волны 215 нм полученного раствора составляла не более 0,8–0,9 и определяли их оптическую плотность при длинах волн 215 и 233 нм против этанола. Индекс окисленности рассчитывали как отношение A_{233}/A_{215} [26].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выделение лецитина и характеристика его окисленности. Лецитин для получения липосом выделяли из желтков куриных яиц сочетанием методов экстракции и хроматографии. Полученный препарат лецитина использовали в виде раствора в хлороформе или этаноле.

Одним из наиболее заметных деструктивных процессов в ФЛ как и во время их выделения, так и в технологических схемах получения липосом является окисление кислородом воздуха. Перекисное окисление липосомальных ФЛ представляет собой типичный свободнорадикальный процесс. Его продуктами являются диеновые конъюгаты, гидроперекиси, альдегидоспирты, окси- и кетокислоты, двухосновные карбоновые кислоты, эпоксиды, которые отрицательно влияют на качество липосомального препарата [27]. Окислению в большей степени подвержены ненасыщенные жирные кислоты, входящие в состав молекул ФЛ. Окисление основного «строительного материала» липосом – фосфатидилхолина – выше определенного предела может приводить к нестабильности продукта во время хранения, а в более глубокой степени нарушает упорядоченность упаковки бислоя за счёт образования гидропероксидов липидов и альдегидов вплоть до обрыва жирнокислотной цепи, что, в свою очередь, приводит к искажению сферической поверхности, росту напряжения на поверхности липосомы, её нестабильности в эмульсии и увеличению проницаемости мембраны [19].

Перекисное число является основным показателем количества перекисей в липидных препаратах и показывает число молей активного кислорода, вызывающего выделение эквивалента йода при взаимодействии с избытком иодистого калия в кислой среде с последующим оттитровыванием выделившегося йода тиосульфатом натрия. В соответствии с ГОСТ перекисное число не должно превышать 10 [25]. Наряду с этим, как уже говорилось, применяется индекс окисленности I_o , или перекисный индекс Кляйна. Данный параметр отражает накопление суммы продуктов

перекисного окисления жирнокислотных остатков липидов [28]. В настоящее время в НТД нередко расчет I_o осуществляется разными методами: в одном случае этот параметр рассчитывают как отношение абсорбции спиртового раствора ФЛ при 232 нм (поглощение конъюгатов гидропероксидов) к абсорбции при 206–210 нм (максимум поглощения –С–С– связей образца). Рассчитанный по этой методике I_o показывает соотношение содержания в образце первичных продуктов окисления – конъюгированных гидропероксидов [29]. В другом случае данный показатель рассматривают как отношение абсорбции раствора ФЛ при длинах волн 233 и 215 нм [28]. Британская фармакопея рекомендует рассчитывать соотношение A_{232}/A_{270} , т.е. отношение абсорбции первичных и вторичных продуктов окисления [29]. Оптимальные величины значения I_o , рассчитанного по первым двум методикам, находятся в интервале от 0,3 до 0,7 [28], что свидетельствует об удовлетворительном качестве липидного материала. Другие исследователи считают приемлемым значение $\leq 0,4$ [13, 30]. Ряд авторов [29] рекомендует рассчитывать показатель удельного поглощения веществ при длине волны 232 нм для оценки накопления конъюгатов гидропероксидов. Вместе с этим, согласно Британской фармакопее, определение поглощения при 270 нм нужно проводить, если необходима оценка накопления продуктов более глубокого окисления липидов – кетодиенов [29]. В своей работе мы определяли I_o как соотношение A_{233}/A_{215} [26]. В таблице 1 приводятся исходные показатели окисленности ФЛ (лецитина), используемых в наших дальнейших исследованиях.

Таким образом, на момент начала экспериментов с липосомами мы имели ФЛ материал с приемлемыми показателями окисленности.

Получение липосомальных форм рагосина и аллапинина

Липосомы с инкорпорированными рагосином и аллапинином были получены методом диспергирования из липидного слоя. Имеются существенные различия в структурах, а следовательно и физико-хи-

Таблица 1. – Показатели окисленности выделенного яичного лецитина

| Перекисное число | Индекс окисленности $I_o = A_{233}/A_{215}$ |
|------------------|---|
| 5,7±0,3 | 0,15±0,02 |

мических свойствах обоих препаратов, в первую очередь, в растворимости: рагосин, антипириновое производное важнейшего полифенола хлопчатника *Gossypium hirsutum* – госсипола – неполярное гидрофобное соединение; аллапинин, напротив, полярное соединение, дитерпеновый алкалоид аконита северного *Acónitum septentrionale*, содержащий четвертичный атом азота и потому образующий солеподобные структуры. Ввиду того, что рагосин представляет собой гидрофобное, нерастворимое в воде и большинстве растворителей соединение, его включали в качестве компонента липидного слоя – объединяли растворы рагосина, лецитина и холестерина (соотношение холестерина к лецитину колебалось от 0,2 до 0,4) в смеси хлороформа и метанола (4 : 1), перемешивали в круглодонной колбе и медленно упаривали на ротаторном испарителе до получения липидного слоя, затем добавляли небольшой объем нейтрального фосфатного буфера и диспергировали в водную фазу при помощи вибромешалки до получения одно-

родной эмульсии лимонно-желтого цвета, темнеющую при долгом стоянии на воздухе. Следует отметить, что после гидратирования липидного слоя большая часть рагосина из-за своей низкой растворимости оставалась на внутренней поверхности колбы, не вовлекаясь в липосомные слои. Также в микроскоп можно было наблюдать мелкие кристаллики неинкорпорированного рагосина (как, например, в правой части рисунка 1 б, см. обложку журнала).

Проведенное микроскопическое изучение эмульсии показало наличие сложных частиц различной формы и размеров (рисунок 1, см. обложку журнала).

Нагрузку по действующему веществу определяли спектрофотометрическим методом по предварительно построенному градуировочному графику. Липосомы осаждали центрифугированием и растворяли в хлороформе. Контролем служили растворенные «холостые» липосомы (полученные без включенного вещества). В результате получили следующие степени включения (таблица 2):

Таблица 2. – Степени включения (нагрузка) рагосина в липосомы в зависимости от соотношения холестерина и лецитина

| | Соотношение холестерин : лецитин (моль/моль) | | |
|-------------|--|--------------|-------------|
| | 0,2 (1 : 5) | 0,3 (3 : 10) | 0,4 (2 : 5) |
| Нагрузка, % | 2,1 | 2,4 | 2,8 |

Как видно из таблицы 2, степень включения рагосина в липосомы невелика и находится в прямой зависимости от содержания в матриксе холестерина. Повидимому, придавая жесткость липидным бислоям, холестерин способствует стабилизации липосомных структур с большим содержанием рагосина. Возможно также гидрофобное взаимодействие лецитина и холестерина с рагосином и его включение в матрикс в виде сложного комплекса (конъюгата). В этом случае следует, повидимому, различать ФЛ-комплексы ЛС и их липосомальные формы [31]. С другой стороны, исходя из свойств ФЛ, можно предположить, что липосомные образования – единственный способ существования ФЛ-комплексов в водном окружении. Особенно, если учесть, что к липосомам относят частицы самых разных форм и размеров.

Аналогично получали липосомы с инкорпорированным аллапинином, однако, ввиду того, что действующее вещество

растворимо в воде, вначале получали липидную пленку, а действующее вещество включали на стадии ее гидратирования, используя растворы аллапинина гидробромида в концентрациях от 1 до 10 мг/мл. Определение доли инкорпорированного аллапинина проводили фотометрическим методом при длине волны 298 нм по ранее построенному градуировочному графику. Для этого суспензию липосом осаждали центрифугированием, растворяли в метаноле при легком нагревании. Растворы при необходимости разбавляли метанолом так, чтобы значение поглощений не превышало 0,8–0,9. Контролем служил раствор «холостых» липосом. Результаты определения представлены в таблице 3.

Как видно из таблицы 3, содержание инкорпорированного аллапинина в липосомах составляет от 10 до 12 % от их веса и полностью зависит от концентрации исходного раствора (лимитируется лишь величиной растворимости), что позволяет в широких пределах регулировать нагрузку

Таблица 3. – Результаты определения нагрузки липосом аллапинином в зависимости от его концентрации в растворе для диспергирования

| Исходная концентрация аллапинина, мг/мл | Количество А, мг/г | Нагрузка, % от изначально взятого |
|--|-----------------------|--------------------------------------|
| 1 | 0,123 | 12,3 |
| 5 | 0,57 | 11,4 |
| 10 | 1,02 | 10,2 |

липосом по аллапинину в зависимости от задач исследования.

Проведенное микроскопическое исследование липосомальной эмульсии (рисунк 2, см. обложку журнала) показало наличие мелких сферических частиц, размер которых существенно меньше, чем размер частиц липосом рагосина. Из этого можно сделать предварительный вывод, что липосомы представляют собой водный раствор аллапинина, заключенный в сферу из ФЛ-бислоя сравнительно простого, мономеллярного строения.

Заключительный этап работы сводился

к определению индекса окисленности и перекисного числа ФЛ, составляющих структуру липосом рагосина и аллапинина. Следует отметить, что объективно определить поглощения растворов липосом в спирте или хлороформе для расчета I_o не представилось возможным ввиду того, что инкорпорированные соединения сами активно поглощают при длинах волн 215 и 233 нм, внося значительную ошибку в определение. Поэтому для нагруженных липосом ограничили определение перекисного числа, а I_o рассчитывали для «холостых», ненагруженных липосом (таблица 4).

Таблица 4. – Показатели окисленности ФЛ, входящих в состав липосом

| Показатель | Липосомы рагосина | Липосомы аллапинина |
|----------------------|-------------------|---------------------|
| Перекисное число | 7,5±0,4 | 6,8±0,4 |
| Индекс окисленности* | 0,21±0,03 | |

Примечание: * – определен на «холостых» липосомах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, методом диспергирования липидного слоя впервые получены стабильные липосомы, содержащие гидрофобное соединение – противовирусный препарат «Рагосин» и полярное соединение – антиаритмический препарат «Аллапинин». В первом случае лиганд включался, по-видимому, в межбислойное пространство, образуя большие мультимеллярные липосомы различной формы. Липосомы аллапинина представляли собой более простые, меньшие по размеру, сферические структуры – водный раствор лиганда, заключенный в бислойную сферу. Определены индекс окисленности исходных ФЛ, степень нагрузки по действующему веществу (лиганду) и показатели окисленности ФЛ, входящих в состав липосом. Показано, что применяемый метод получения липосом не оказывает существенного влияния на степень окисленности составляющих их ФЛ. Вместе с этим, остаются открытыми вопросы низкой степени нагрузки липосом по действующе-

му веществу, способа контроля размеров липосомальных частиц, получаемых для моделирования мембранного транспорта и применения в качестве терапевтической формы.

Работа проведена в рамках фундаментального проекта ТА-ФА-Ф6-002 АН РУз.

SUMMARY

V. V. Uzbekov, B. F. Abdullaev,
Y. I. Oschepkova, Sh. I. Salikhov
PREPARATION OF LIPOSOMAL
FORMS OF RAGOSIN AND ALLAPININ,
PROPERTIES OF THEIR LOADING
AND PHOSPHOLIPIDS OXIDATION

Using the method of lipid layer dispersion lecithin liposomes of the antiviral drug “Ragosin” and the antiarrhythmic drug “Allapinin” are obtained for the first time. The form and the structure of liposome particles obtained are studied by the method of optical microscopy. Ligand loading of the liposomes prepared is determined. It is stated that the degree of ragosin inclusion into liposomes is

not great (2–3 %) and is in direct relation to the contents of cholesterol in the matrix. The content of incorporated allapinin in liposomes makes 10–12 % of their weight and fully depends on the concentration of the initial solution. The indices of phospholipids oxidation are measured – the oxidation index and the peroxide number. It is shown that the proposed method of liposome preparation does not have a great impact on oxidation degree of the phospholipids composing them.

Keywords: allapinin, ragosin, dosage forms, liposomes, phospholipids, lecithin, oxidation degree, peroxide number.

ЛИТЕРАТУРА

1. Immordino, M. L. Stealth liposomes: review of the basic science, rationale, and clinical applications, existing and potential / M. L. Immordino, F. Dosio, L. Cattel // *Int. J. Nanomedicine*. – 2006. – Vol. 1(3). – P. 297–315.
2. Samad, A. Liposomal drug delivery systems: an update review / A. Samad, Y. Sultana, M. Aqil // *Curr. Drug Deliv.* – 2007. – Oct. 4(4). – P. 297–305.
3. Mishra, B. Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery / B. Mishra, B. B. Patel, S. Tiwari // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. – 2010. – № 6. – P. 9–24.
4. Liposome: classification, preparation, and applications / A. Akbarzadeh [et al.] // *Nanoscale Res. Lett.* – 2013. – Feb 22;8 (1):102. doi: 10.1186/1556-276X-8-102.
5. Bangham, A. D. Negative Staining of Phospholipids and their Structured Modification by Surface Agents as Observed in the Electron Microscope / A. D. Bangham, R. W. Horne // *J. Mol. Biol.* – 1964. – Vol. 8. – P. 660–668.
6. Bangham, A. D. Diffusion of Univalent Ions Across the Lamellae of Swollen Phospholipids / A. D. Bangham, M. M. Standish, J. C. Watkins // *Ibid.* – 1965. – V.13. – P. 238–252.
7. Шве́ц, В. И. Липосомы в фармации. Продукты нанобиотехнологии / В. И. Шве́ц, Ю. М. Краснополяский // *Провизор*. – 2008. – № 3. – С. 18–24.
8. Барсуков, Л. И. Липосомы / Л. И. Барсуков // *Соросовский обр. ж.* – 1998. – № 10. – С. 2–9.
9. Барышников, А. Ю. Наноструктурированные липосомальные системы как средство доставки противоопухолевых препаратов / А. Ю. Барышников // *Актуальные вопросы онкологии*. – Вестник РАМН. – 2012. – № 3. – С. 23–31.
10. Petros, R. A. Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications / R. A. Petros, J. M. DeSimone // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2010. – Aug; vol. 9(8). – P. 615–27. doi: 10.1038/nrd2591.
11. Lasic, D. D. Liposomes: From Physics to Applications / D. D. Lasic. – Amsterdam: Elsevier, 1993.
12. Ефимова, А. А. Биодegradируемые мультлипосомальные контейнеры / А. А. Ефимова, А. В. Сыбачин, С. Н. Чвалун // *Высокомолекулярные соединения. Серия Б*. – 2015. – Т. 57, № 2. – С. 1–5.
13. Torchilin, V. P. Liposomes. Practical approach / V. P. Torchilin. V. Weissing. – 2nd edition. – Oxford press. – 2003. – 396 p.
14. Liposome Technology, Vol. 1 Liposome Preparation and Related Technique / G. Gregoriadis (ed.) / Informa Healthcare, USA, New York (2007). – P. 285–295.
15. Wagner, A. Liposome technology for industrial purposes / A. Wagner, K. Vorauer-Uhl // *J Drug Deliv.* – 2011; 2011:591325. doi: 10.1155/2011/591325. Epub 2010 Dec 5.
16. Chang, H. I. Clinical development of liposome-based drugs: formulation, characterization, and therapeutic efficacy / H. I. Chang, M. K. Yeh // *Int. J. Nanomedicine*. – 2012; 7:49–60. doi: 10.2147/IJN.S26766. Epub 2011 Dec 30.
17. Перспективы получения и использования липосомальных форм лекарственных препаратов (обзор) / В. К. Матус [и др.] // *Вестник Национальной Академии наук РБ, Сер. биол. наук*. – 2000. – № 1. – С. 131–141.
18. Бушмакина, И. М. XXI век: Как изменились наши представления о липосомальных лекарственных средствах (обзор) / И. М. Бушмакина, М. А. Мартынова, Е. В. Князева // *Хим-фарм. ж.* – 2015. – Т. 49, № 2. – С. 41–49.
19. Стадниченко, А. В. Исследование окисленности фосфолипидов при получении липосом с цитостатиками / А. В. Стадниченко, Ю. М. Краснополяский, Т. Г. Ярных // *Вестник фармации*. – 2017. – № 3 (77). – С. 29–33.
20. Фармакопейная статья ФС 42 Уз-0745-2013. Рагосин таблетки 0,05 г. Фармакопейный Комитет ГУ по контролю качества лекарственных средств и медицинской техники МЗ РУз.

21. A study of the mechanism of the antiarrhythmic action of Allapinin / Y. V. Vakhitova [et al.] // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2013. – Т. 39. № 1. – С. 92–101.
22. Соколов, С. Ф. Антиаритмический препарат «Аллапинин»: обзор результатов клинического изучения / С. Ф. Соколов, Ф. Н. Джахангиров // Кардиология. – 2002. – № 7. – С. 96–102.
23. Allapinine [Electronic source] / U.S. National Library of Medicine. – Mode of access: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/51346120>. – Data of access: 03.07.2019.
24. Северин, С. Е. Практикум по биохимии: Учеб. пособие / под ред. С. Е. Северина и Г. А. Соловьевой. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – С. 76–78.
25. ГОСТ Р 53970-2010. Национальный стандарт Российской Федерации «Добавки пищевые. Лецитины E322. Общие технические условия» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/gost-r-53970-2010>. – Дата доступа: 03.07.2019.
26. Methods for testing antioxidant activity / M. Antolovich [et al.] // Analyst. – 2002. – P. 183–198.
27. Dobarganes, M. C. Analysis of lipid hydroperoxides / M. C. Dobarganes, J. Velasco // Eur. J. Lipid Sci. Technol. – 2002. – 104. – P. 420–428.
28. Рыбакова, О. В. Определение спектральных характеристик спиртовых растворов растительных масел и масляных экстрактов методом УФ-спектроскопии / О. В. Рыбакова, Е. Ф. Сафонова, А. И. Сливкин // Вестник Воронежского Государственного Университета, Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2007. – № 2. – С. 171–173 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.vestnik.vsu.ru/pdf/chembio/2007/02/2007-02-34.pdf>. – Дата доступа: 03.07.2019.
29. Анализ показателей качества фитопрепаратов на основе жирных растительных масел / Н. Н. Глущенко [и др.] // Фармация. – 2005. – № 3. – С. 7–9.
30. Краснополяский, Ю. М. Фармацевтическая биотехнология: бионанотехнология в фармации и медицине / Ю. М. Краснополяский, А. С. Дудниченко, В. И. Швец // Харьков: Издательский центр НТУ «ХПИ». – 2011. – 227 с.
31. The preparation of silybin-phospholipid complex and the study of its pharmacokinetics in rats / X. Yanyu [et al.] // Int. J. of Pharmaceutics. – 2006. – 307. – P. 77–82.

Адрес для корреспонденции:

100125, Республика Узбекистан,
г. Ташкент, ул. М. Улугбека, 83,
Институт биоорганической химии
им. акад. А.С. Садыкова
АН Республики Узбекистан,
e-mail: via74@yandex.ru,
тел. +998(71) 262-35-40,
факс +998(71) 262-70-63
Узбеков В.В.

Поступила 01.07.2019 г.

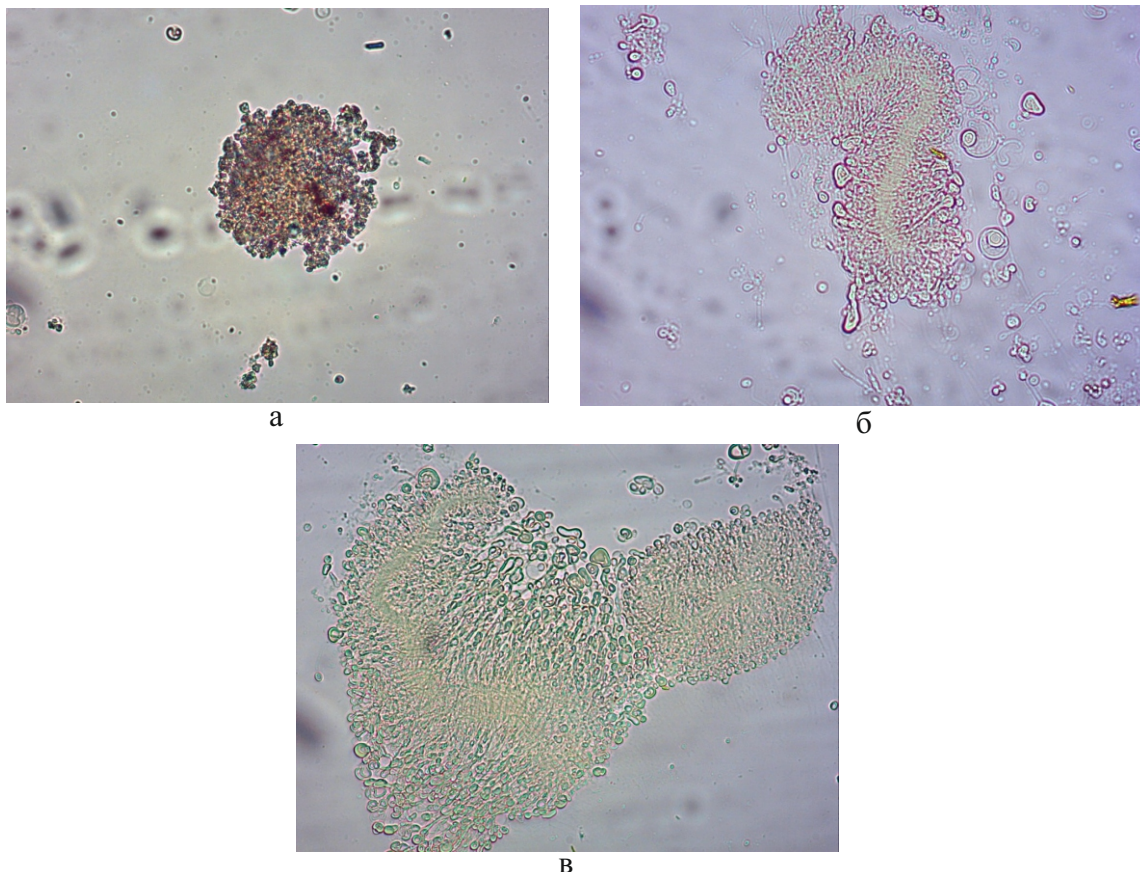


Рисунок 1. – Микрофотографии эмульсии состава рагосин-лецитин-холестерин, полученные при помощи оптического микроскопа. Увеличение 100х (а), 400х (б) и 1000х (в)

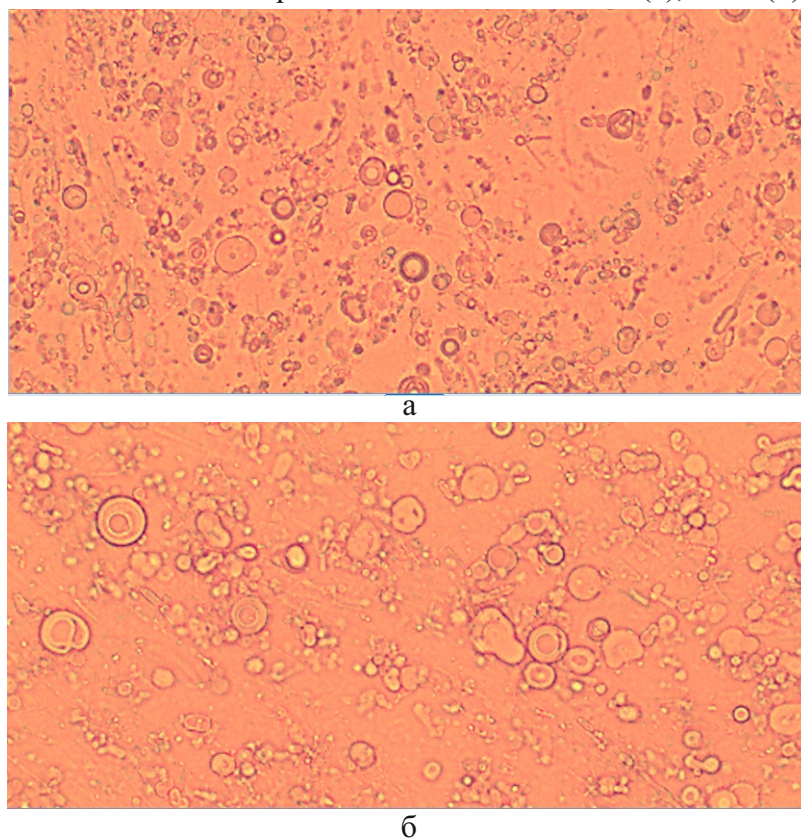


Рисунок 2. – Микрофотографии липосом с инкорпорированным аллапинином состава лецитин-холестерин, полученные при помощи оптического микроскопа. Увеличение 100х (а) и 400х (б)